



## DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets <sup>6</sup> : <b>A61K 7/06, 7/42, 31/70, 35/78</b>	<b>A1</b>	(11) Numéro de publication internationale: <b>WO 96/16632</b>	(43) Date de publication internationale: 6 juin 1996 (06.06.96)
---	-----------	---	---

(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR95/01552

(22) Date de dépôt international: 23 novembre 1995 (23.11.95)

(30) Données relatives à la priorité:

94/14176	25 novembre 1994 (25.11.94)	FR
95/03513	24 mars 1995 (24.03.95)	FR
95/07508	22 juin 1995 (22.06.95)	FR

(71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): LABORATOIRES DE BIOLOGIE VEGETALE YVES ROCHER [FR/FR]; La Croix des Archers, F-56201 La Gacilly (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (US seulement): ROUILLARD, Françoise [FR/FR]; Résidence les Coteaux B20, F-91160 Longjumeau (FR). JOSSE, Annabelle [FR/FR]; 50, rue Victor-Hugo, F-94320 Thiais (FR). ROBIN, Jean-Renaud [FR/FR]; 12, rue Fontaine, F-93200 Saint-Denis (FR).

(74) Mandataire: LE GUEN, Gérard; Cabinet Lavoix, 2, place d'Estienne-d'Orves, F-75441 Paris Cédex 09 (FR).

(81) Etats désignés: AL, AM, AU, BB, BG, BR, BY, CA, CN, CZ, EE, FI, GE, HU, IS, JP, KG, KP, KR, KZ, LK, LR, LS, LT, LV, MD, MG, MK, MN, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, TJ, TM, TT, UA, US, UZ, VN, brevet européen (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG), brevet ARIPO (KE, LS, MW, SD, SZ, UG).

## Publiée

Avec rapport de recherche internationale.

Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si de telles modifications sont reçues.

(54) Title: COSMETIC OR PHARMACEUTICAL COMPOSITIONS CONTAINING MANGIFERIN OR DERIVATIVES THEREOF

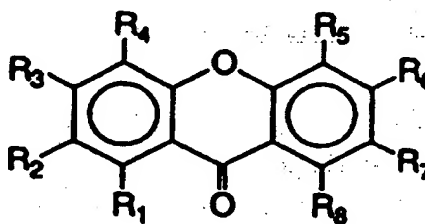
(54) Titre: COMPOSITIONS COSMETIQUES OU PHARMACEUTIQUES CONTENANT DE LA MANGIFERINE OU SES DERIVES

## (57) Abstract

A cosmetic or pharmaceutical composition including, as the active principle, a compound of general formula (I), wherein R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub> and R<sub>8</sub> are selected from -H, -OH, -OCH<sub>3</sub> and a glucosyl radical, or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

## (57) Abrégé

Cette invention a pour objet une composition cosmétique ou pharmaceutique comprenant, à titre de principe actif, un composé de la formule générale (I), où R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub>, R<sub>8</sub> sont choisis parmi -H, -OH, -OCH<sub>3</sub> et un radical glucosyle ou un de ses sels pharmaceutiquement acceptable.



(I)

# **UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION**

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AT	Autriche	GB	Royaume-Uni	MR	Mauritanie
AU	Australie	GE	Géorgie	MW	Malawi
BB	Barbade	GN	Guinée	NE	Niger
BE	Belgique	GR	Grèce	NL	Pays-Bas
BF	Burkina Faso	HU	Hongrie	NO	Norvège
BG	Bulgarie	IE	Irlande	NZ	Nouvelle-Zélande
BJ	Bénin	IT	Italie	PL	Pologne
BR	Brésil	JP	Japon	PT	Portugal
BY	Bélarus	KE	Kenya	RO	Roumanie
CA	Canada	KG	Kirghizistan	RU	Fédération de Russie
CF	République centrafricaine	KP	République populaire démocratique de Corée	SD	Soudan
CG	Congo	KR	République de Corée	SE	Suède
CH	Suisse	KZ	Kazakhstan	SI	Slovénie
CI	Côte d'Ivoire	LJ	Liechtenstein	SK	Slovaquie
CM	Cameroun	LK	Sri Lanka	SN	Sénégal
CN	Chine	LU	Luxembourg	TD	Tchad
CS	Tchécoslovaquie	LV	Lettonie	TG	Togo
CZ	République tchèque	MC	Monaco	TJ	Tadjikistan
DE	Allemagne	MD	République de Moldova	TT	Trinité-et-Tobago
DK	Danemark	MG	Madagascar	UA	Ukraine
ES	Espagne	ML	Mali	US	Etats-Unis d'Amérique
FI	Finlande	MN	Mongolie	UZ	Ouzbékistan
FR	France			VN	Viet Nam
GA	Gabon				

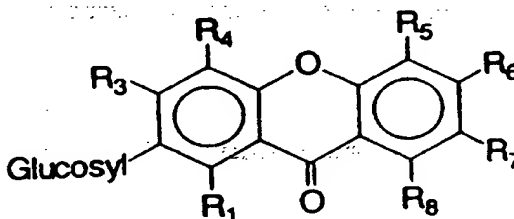
## COMPOSITIONS COSMETIQUES OU PHARMACEUTIQUES CONTENANT DE LA MANGIFERINE OU SES DERIVES

La présente invention concerne des compositions cosmétiques ou pharmaceutiques contenant, à titre de principe actif de la mangiférine (ou ses dérivés) naturelle ou obtenue par synthèse chimique, enzymatique, ou par voie biotechnologique, ainsi que des compositions contenant à titre de principe actif un extrait végétal contenant de la mangiférine, en particulier un extrait de feuille d'Aphloia ou de Mangiféra.

Ces compositions peuvent être utilisées notamment pour protéger la peau contre les rayonnements ultra-violets et le vieillissement cutané et améliorer sa qualité structurelle.

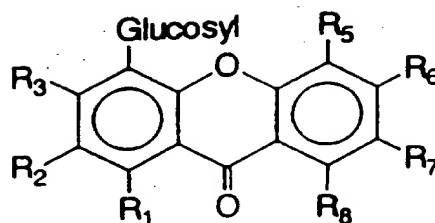
La mangiférine est un C-glucoside de la tétrahydroxy-1,3,6,7 xanthone. Elle est également nommée aphloïol (Billet and al, 1965). Cette molécule ainsi que ses dérivés (dérivés méthylés, O-glucosyles ou l'isomangiférine) sont naturellement présents dans un certain nombre de plantes, mais c'est la mangiférine qui est la C-glucoside xanthone la plus largement distribuée (Hostettmann, 1977), et plus particulièrement parmi les angiospermes.

Elle présente la structure chimique ci-dessous :



où R<sub>1</sub> = R<sub>3</sub> = R<sub>6</sub> = R<sub>7</sub> = OH et R<sub>4</sub> = R<sub>5</sub> = R<sub>8</sub> = H.  
On trouve également naturellement l'isomangiférine qui présente la structure ci-dessous :

2



5

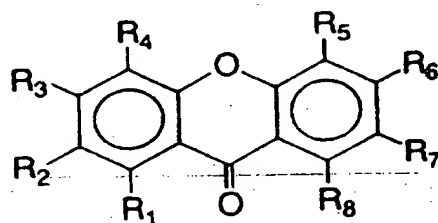
où  $R_1 = R_3 = R_6 = R_7 = \text{OH}$  et  $R_2 = R_5 = R_8 = \text{H}$ .

Ses dérivés d'origine naturelle peuvent présenter des groupements O-méthyle ( $-\text{OCH}_3$ ) ou glucosyle ( $-\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_6$ ) sur les positions  $R_1$ ,  $R_3$ ,  $R_6$  ou  $R_7$ .

10

L'ensemble des composés formés par la mangiférine et ses dérivés) correspondent à la formule I générale suivante :

15



(I)

20

où  $R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7$  sont choisis parmi  $-\text{H}$ ,  $-\text{OH}$ ,  $-\text{OCH}_3$  et un radical glucosyle.

Les composés de formule I peuvent être obtenus par différents moyens :

25

1) extraction de matières végétales. La mangiférine et ses dérivés sont naturellement présents dans différentes plantes, dont en particulier les espèces indiquées dans le tableau suivant :

30

35

	CLASSE	SOUS-CLASSE	ORDRE	FAMILLE	ESPECE
	Filices	Leptosporangiatæ	Filicales	Polypodiaceæ	<i>Athyrium mesosorum</i>
	Dicotyledoneæ	Archichlamydeæ	Guttiferales	Guttiferae	<i>Hypericum acutum</i>
5					<i>H. chinense</i>
					<i>H. humifusum</i>
					<i>H. montanum</i>
					<i>H. nummularium</i>
					<i>H. pulchrum</i>
10			Rosales	Leguminosæ	<i>Hedysarum obscurum</i>
			Rutales	Malpighiaceæ	<i>Hiptage madagblota</i>
			Sapindales	Anacardiaceæ	<i>Mangifera indica</i>
			Celastrales	Hippocrateaceæ	<i>Salacea prunoides</i>
			Violales	Flacourtiaceæ	<i>Flacourtia indica</i>
15					<i>Aphloia theaeformis</i>
					<i>A. madagascariensis</i>
		Sympetalæ	Ebenales	Sapotaceæ	<i>Madhuca utilis</i>
			Tubifloræ	Convolvulaceæ	<i>Cuscuta reflexa</i>
	Monocotyledoneæ		Liliifloræ	Liliceæ	<i>Anemarrhena rhizoma</i>
					<i>Smilax glycyphylla</i>
20				Iridaceæ	All spp. of <i>pogoniris</i> section
					<i>Iris pseudacorus</i>
					<i>Iris dichotoma</i>
					<i>Belamcanda chinensis</i>
25					<i>Crocus aureus</i>
			Graminales	Gramineæ	<i>Cymbopogon afronardus</i>

30 Les espèces d'Aphloia et de Mangifera sont des plantes dont les feuilles sont riches en mangiférine.

35 - L'Aphloia est un arbuste entièrement glabre, de 3 à 4 m de hauteur, originaire de la côte est de Madagascar et des îles voisines (Réunion, Maurice, Seychelles, Comores). Les feuilles alternes sont simples, lancéolées, plus ou moins dentées sur les bords sauf à la base et non stipulées.

40 Les fleurs hermaphrodites, solitaires, en cymes pauciflores, sont apétales. Elles possèdent 4 à 6 sépales imbriqués; les plus internes sont pétaloïdes.

Les fruits sont des baies, blanches à maturité.

Les feuilles de cette plante sont connues pour

leurs propriétés diurétiques, veino-toniques et cicatrisantes qui les ont fait utiliser en infusion en médecine traditionnelle.

5                   - Le Mangifera, et en particulier Mangifera indica, appartient à la famille des Anacardiacees. Le genre Mangifera est caractérisé par des caractères communs suivants : arbres à feuilles alternes, pétiolées, entières, coriaces aux inflorescences terminales en panicules. Les fruits sont des drupes.

10                   Ce genre comprend soixante deux espèces arborescentes dont 16 espèces donnent des fruits.

                  L'espèce Mangifera indica L. en particulier est un arbre érigé à port plus ou moins étalé de 9 à 30 m de haut, toujours vert. Cette espèce comporte actuellement environ 1 000 variétés. Les espèces de Mangifera produisant des fruits sont très répandues. On trouve le Mangifera indica en particulier en Asie, Amérique Centrale et du Sud et en Afrique Tropicale.

20                   Traditionnellement, le fruit du Mangifera est consommé par les populations locales qui utilisent également d'autres parties de l'arbre pour divers usages : Le Mangifera indica en particulier est utilisé couramment pour soigner les populations : des infusions de l'écorce pour soigner la leucorrhée, les hémorragies et la dysenterie. Les feuilles sont employées en décoction pour la perte de voix, pour le diabète. Les cendres des feuilles sont également appliquées sur les brûlures.

25                   Les composés de formule I sont par exemple obtenus par purification d'extraits de tout ou partie de ces plantes, selon tout procédé d'extraction et de purification (par exemple, extraction par un solvant polaire tel que l'eau, un alcanol, ou mélange de ces solvants, puis purification par cristallisation ou tout autre procédé connu de l'homme de l'art). Quelques-uns de ces procédés sont décrits par exemple dans le brevet

publié sous le numéro FR-A-2 486 941.

2) par voie chimique ou enzymatique (procédés décrits entre autres dans deux articles : *Bhatia-V-K and al, Tetrahedron lett.(14), p. 1741-2* et *Nott-P-E, Phytochemistry, vol 6 (11); p. 1597-9*).

3) par toute voie biotechnologique : on peut envisager la culture de cellules de Mangiféra, en cals sur supports solides ou en fermenteurs, ou sous forme de protoplastes. Mais on peut également envisager d'utiliser la bioconversion de précurseurs de la mangiférine ou de ses dérivés par des microorganismes (par exemple des levures, bactéries...) et son obtention par extraction de ces microorganismes, ou par excrétion dans le milieu de culture.

La mangiférine (ou ses dérivés) peut être utilisée à différents degrés de pureté, seule ou en mélange.

La mangiférine purifiée sèche, se présente sous forme d'aiguilles prismatiques de couleur jaune. Elle ne possède ni odeur, ni saveur.

Elle est très peu soluble dans l'eau froide, soluble dans les liquides alcalins. Sa solubilisation est due à la formation de sels par les "OH" phénoliques et la mangiférine (ou ses dérivés) peut être employée sous forme libre ou de ses sels.

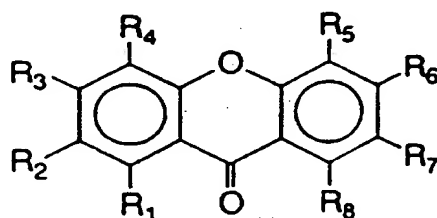
Les auteurs de la présente invention ont étudié les propriétés biologiques de la mangiférine (et ses dérivés) sous forme pure et sous forme d'extraits végétaux. En particulier, ceux-ci se sont intéressés aux activités d'extraits d'Aphloia ou de Mangiféra dont les feuilles sont riches en mangiférine.

Les inventeurs ont à présent découvert que la mangiférine et ses dérivés sous forme purifiée ou contenus dans des extraits végétaux, en particulier les

extraits de feuille d'Aphloia ou de Mangifera, possèdent des activités anti-ultra-violets (UV), anti-collagénase, anti-élastase très prononcées. Ces composés de formule I ont également des propriétés anti-radicalaire et anti-tyrosinase. Ils sont donc particulièrement utiles dans des compositions cosmétiques ou pharmaceutiques destinées à la protection de l'épiderme contre les rayons ultra-violets, pour améliorer la qualité structurale de la peau et pour apporter une aide à la lutte contre le vieillissement cutané biologique et/ou actinique.

En conséquence, l'invention a pour objet des compositions cosmétiques ou pharmaceutiques, comprenant, à titre de principe actif, un composé de la formule I générale suivante :

formule I



(I)

où  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$ ,  $R_6$ ,  $R_7$ ,  $R_8$  sont choisis parmi -H, -OH, -OCH<sub>3</sub> et un radical glucosyle ou un de ses sels pharmaceutiquement acceptable.

Selon une variante avantageuse, les compositions de la présente invention comprennent à titre de principe actif un composé de formule I,

où  $R_1$ ,  $R_3$ ,  $R_6$ ,  $R_7$ , sont choisis parmi -H, -OH, -OCH<sub>3</sub> et un radical glucosyle,

et  $R_2 = R_5 = R_8 = H$  et  $R_4$  est un radical glucosyle,

ou  $R_2$  est un radical glucosyle et  $R_4 = R_5 = R_8 = -H$ .

Préférentiellement encore,  $R_1 = R_3 = R_6 = R_7 = OH$ ,  $R_2$  est un radical glucosyle et  $R_4 = R_5 = R_8 = -H$ .



Selon un mode de réalisation avantageux, les compositions selon l'invention comprennent un composé de formule I obtenu à partir d'extrait végétal.

5 Ces compositions comprennent préférentiellement, en fonction du composé choisi, des proportions allant de 0,01 à 50 % et préférentiellement encore de 0,01 à 10 % en poids de ce composé sous forme sèche.

10 L'invention a également pour objet des compositions cosmétiques ou pharmaceutiques comprenant un extrait de feuilles d'Aphloïa ou de Mangiféra en tant que principe actif, notamment des extraits obtenus par extraction avec des solvants polaires.

15 Les compositions comprenant un extrait d'Aphloïa ou de Mangiféra, comprennent généralement de 0,1 à 20 % en poids d'extrait sec par rapport au poids total de la composition. La proportion d'extrait peut toutefois aller jusqu'à 50 % dans le cas d'un extrait liquide.

20 Les compositions selon l'invention ont un effet photoprotecteur au niveau de la peau, des lèvres ou des cheveux. Elles sont également destinées à améliorer la qualité structurale de la peau, ou à lutter contre le vieillissement de la peau.

25 Les compositions selon l'invention se présentent de préférence sous forme d'émulsion simple Huile/Eau ou Eau/Huile, émulsions multiples ou micro-émulsions, gels aqueux, hydroalcooliques, huiles, lotions aqueuses ou hydroalcooliques, crème, bâtonnet, shampooing ou après-shampooing.

30 L'invention a également pour objet une méthode de traitement esthétique consistant à appliquer sur la peau, les cheveux ou les lèvres, une quelconque de ces compositions cosmétiques.

35 Elle a en outre pour objet l'utilisation d'un composé de formule I (mangiférine ou ses dérivés) ou d'un extrait de feuilles d'Aphloïa ou de Mangiféra pour la

fabrication de compositions pharmaceutiques ou cosmétiques à action photoprotectrice, anti-collagénase et anti-élastase, anti-radicalaire et anti-tyrosinase.

On décrira ci-après les propriétés des extraits d'Aphloïa et de Mangiféra ainsi que celle de la mangiférine purifiée, ces propriétés étant illustrées par les figures 1 à 7b, dans lesquelles :

- la figure 1a représente le spectre d'absorption de la lumière UV en fonction de la longueur d'onde d'un extrait d'Aphloïa ;

- la figure 1b représente le spectre d'absorption de la lumière UV en fonction de la longueur d'onde d'un extrait de Mangifera ;

- la figure 1c représente le spectre d'absorption de la lumière UV en fonction de la longueur d'onde de la mangiférine ;

- la figure 2a représente la photostabilité en fonction du temps d'irradiation d'un extrait d'Aphloïa comparé à un filtre solaire commercialisé, Parsol MCX ;

- la figure 2b représente la photostabilité en fonction du temps d'un extrait de Mangifera, comparé à deux filtres solaires de synthèse commercialisés (extrait de Mangiféra, Univul T150, benzophénone 3) ;

- la figure 2c représente la photostabilité en fonction du temps de la mangiférine comparée à un filtre solaire commercialisé (Parsol MCX) ;

- la figure 3a représente les courbes d'activité antiradicalaire d'un extrait d'Aphloïa et d'un témoin sans inhibiteur en fonction du temps ;

- la figure 3b représente les courbes d'activité antiradicalaire d'un extrait de Mangifera (0,25 % ext. sec) et d'un témoin sans inhibiteur en fonction du temps ;

- la figure 3c représente les courbes d'activité antiradicalaire de la mangiférine (0,05 %) et d'un

témoin sans inhibiteur en fonction du temps ;

- la figure 4a représente les courbes d'activité anti-élastase d'un extrait d'Aphloïa et d'un témoin sans inhibiteur (0,20 %, dil. 1/5) ;

5                   - la figure 4b représente la courbe d'activité anti-élastase d'un extrait de Mangifera (0,25 %, dil. 1/4) déterminée par cinétique enzymatique au spectrophotomètre (mesure du rapport de l'absorbance sur le temps);

10                   - la figure 4c représente la courbe d'activité anti-élastase de la mangiférine (0,01 %) ;

                  - la figure 5a représente l'activité anti-hyaluronidase d'un extrait d'Aphloïa ;

                  - la figure 5b représente l'activité anti-hyaluronidase d'un extrait de Mangifera (0,25 %) ;

15                   - la figure 6 représente l'activité antityrosinase d'un extrait d'Aphloïa ;

                  - la figure 7a représente la courbe d'activité anti-collagénase d'un extrait de Mangifera (0,25 %) déterminée par la mesure de la densité optique à 320 nm;

20                   - la figure 7b représente la courbe d'activité anti-collagénase de la mangiférine (0,042 %) ;

#### I - EXTRAITS D'APHLOÏA

25                   L'extrait d'Aphloïa est obtenu à partir de toutes les sous-espèces d'Aphloïa, par exemple Aphloïa theaformis (Vahl) Benn, et Aphloïa madagascariensis Clos.

                  Les principaux constituants, actuellement identifiés dans l'extrait de feuilles d'Aphloïa de  
30 l'invention sont :

- . un C-glucosyltétrahydroxyxanthane (l'Aphloïol)
- . des flavonoïdes
- . des tannins
- . trois triterpène glucosides (ester glucosidique de  
35 l'acide tormentique et de l'acide 23 hydroxytormentique

et ester glucosidique de l'acide 6- $\beta$ -hydroxytormentique).

Il est exempt de substances alcaloïdes.

Les extraits d'Aphloïa peuvent être obtenus en soumettant les feuilles d'Aphloïa fraîches ou sèches, à  
5 une extraction par un solvant polaire, notamment par un solvant tel que l'eau, un alcanol (par exemple l'éthanol, le méthanol), le propylène glycol, le butylène glycol ou un mélange de ces solvants. On peut par exemple utiliser un mélange alcanol/eau ou bien un mélange propylène  
10 glycol/eau.

Le poids de solvant utilisé est de préférence égal à 2 à 20 fois le poids des feuilles rapporté au poids sec. On effectue avantageusement l'extraction, sous agitation, à une température située entre 10°C et la  
15 température d'ébullition du solvant. La durée de l'extraction est de préférence de 15 minutes à 5 heures.

On concentre éventuellement les solutions extractives, on sèche éventuellement les concentrats obtenus par les moyens connus de l'homme du métier (étuve  
20 ou à vide, micro-ondes...).

#### Exemple d'extrait d'Aphloïa

25 L'extrait étudié a été obtenu de la manière suivante :

6% (p/p) de feuilles sèches d'Aphloïa theaformis d'origine Malgache, grossièrement broyées, sont mis en contact sous agitation et à 55°C avec un mélange  
30 propylène glycol/eau (40/60). L'extraction se déroule pendant 1h30. La plante est écartée par filtration sur une toile (55  $\mu$ m). Puis l'extrait est filtré sur un filtre plaque (5  $\mu$ m).

Le pH de l'extrait se situe vers 5,5 et son  
35 extrait sec entre 0,8 et 1,3%.

### Effet photoprotecteur

L'extrait d'Aphloïa décrit ci-dessus présente un spectre d'absorption dans l'UV très intéressant pour une application de protection contre l'érythème solaire, avec un maximum aux alentours de 320 nm, correspondant aux UVB et un autre aux environs de 360 nm, correspondant à la zone des UVA, comme représenté à la fig. 1a.

Par ailleurs, l'absence de phototoxicité a été vérifiée.

Compte tenu de l'innocuité de cet extrait, la résistance de l'extrait à l'irradiation, c'est à dire sa photostabilité, par rapport à celles de filtres synthétiques déjà commercialisés, comme par exemple l'octylméthoxycinnamate (PARSOL MCX, Givaudan, Bâle, Suisse) a été vérifiée.

Un filtre solaire est une molécule qui, par définition absorbe les radiations ultra violettes fortement énergétiques. Ainsi excitée, elle est susceptible de perdre son énergie, soit en émettant un rayonnement de longueur d'onde supérieur, soit en subissant des transformations intramoléculaires.

Ces réarrangements modifient ses propriétés physico-chimiques et en particulier sa faculté d'absorber la lumière dans la zone du spectre considéré.

L'extrait a donc été soumis, à un rayonnement continu dont le spectre est comparable à celui de la lumière solaire et de niveau énergétique contrôlable, émis par une lampe au xénon. L'évolution du spectre d'absorption a été suivie au cours du temps et le temps de demi-vie mesuré (durée d'irradiation nécessaire pour une perte d'absorption de 50% à une longueur d'onde fixée).

Comme représenté à la fig. 2a, l'extrait d'Aphloïa, comparé au PARSOL MCX dans les mêmes condi-

tions s'est révélé aussi résistant à l'irradiation avec un temps de demi-vie très comparable.

Enfin l'extrait d'Aphloïa préparé selon le procédé précédemment décrit a été testé dans une composition cosmétique afin d'évaluer l'indice de protection SPF, selon la méthode SOLATEX, méthode d'évaluation du facteur de protection solaire in vitro commercialisée par IN VITRO INTERNATIONAL (Irvine, Californie, USA).

Une base cosmétique contenant 10% en poids de l'extrait ci-dessus a été comparée à la même base contenant 10% en poids de propylène glycol pur. Après application du protocole SOLATEX, les résultats suivants ont été obtenus :

base + propylène glycol  $\Rightarrow$  SPF = 1  
base + extrait de l'invention  $\Rightarrow$  SPF = 4,5

L'extrait de l'invention s'avère donc efficace pour protéger la peau contre l'irradiation ultra violette: l'extrait peut être utilisé seul, ou en association avec des filtres chimiques synthétiques ou des écrans minéraux, dont il vient renforcer l'efficacité.

D'autre part les tests d'activité in vitro suivants montrent l'intérêt de l'extrait obtenu selon l'invention dans la protection de la peau au niveau moléculaire.

Activité anti radicalaire (déterminée selon V. Ponti, M.U. Dianzani, K. Cheeseman and T.F. Slater, Cehm - Biol interaction, 23 (1978) 281-291).

Des anions superoxydes sont générés par la réaction de la NADH (Nicotinamide Adénine Dinucléotide sous forme réduite) sur le PMS (Phénazine Méthosulfate). Les anions superoxydes réduisent le NBT (Nitro bleu de Tetrazolium) en diformazan de couleur bleu-violet.

L'apparition de NBT réduit est suivi dans le temps, au spectrophotomètre. Les résultats sont représen-

tés sur la figure 3a.

On exprime l'activité anti-radicalaire des extraits en équivalent rutine pour une inhibition de 50%. Un extrait d'Aphloïa (extrait sec à 1%) présente une  
5 activité 6 à 12 fois plus importante que le témoin rutine (0,1 %) en fonction de la polarité du solvant d'extraction utilisé.

10 L'efficacité des extraits considérés dans la protection par rapport aux radicaux superoxydes est tout à fait significative.

Compte tenu de la part active des radicaux libres dans le processus du vieillissement, l'extrait  
15 d'Aphloïa a potentiellement une activité intéressante dans la protection de la peau contre le vieillissement dû à l'altération des structures moléculaires de l'épiderme.

D'autre part, les extraits d'Aphloïa ont une  
20 activité protectrice par rapport aux protéines de structure : élastine et collagène.

Détermination de l'activité anti-élastase (déterminée selon J. Bieth, B. Spices et Camille G. Wermecth,  
25 Biochemical medecine 11, 350-357, 1974, modifié).

Une élastase pancréatique est mise à agir sur un substrat hydrophile, spécifique de l'enzyme MeO Suc - Ala - Ala - Pro - Val - pNa et ayant la caractéristique de libérer un produit chromogène, le p-nitroanilide  
30 (pNa). La cinétique enzymatique est suivie au spectrophotomètre. Les résultats sont représentés à la fig. 4a.

L'activité anti-élastase est exprimée en unité arbitraire et est définie par l'inverse de la quantité d'extrait pour obtenir une inhibition de 50 %, multiplié  
35 par 100.

Ainsi 200 µl de l'extrait ci-dessus dilué au 1/5ème permettent d'obtenir 50% d'inhibition par rapport au témoin sans inhibiteur. L'activité est donc de  $\frac{1}{5} \times 100 \times 5 = 2,5$  unités arbitraires.

5      200

L'extrait d'Aphloia (1% d'extrait sec) présente une activité de 1 à 6 unités arbitraires.

10      Activité anti-collagénase (déterminée selon Erich Wünsels and Hans Georg Heidrich 15.07.1963).

Une collagénase de Clostridium histolyticum est mise à agir sur un substrat hydrophile (p. phenylazo - benzylcarbonyl - L propyl - L leucyl - glycyl - L Propyl - D arginine). Le produit résultant de la coupure entre Leu et Gly est lipophile et absorbe la lumière UV à 320 nm.

15      L'activité anti-collagénase est exprimée en unités arbitraires et correspond à l'inverse de la  
20      quantité d'extrait (1% extrait sec) nécessaire pour obtenir 50% d'inhibition multipliée par 100. Pour l'extrait d'Aphloia l'activité est de 0,5 à 3.

25      Activité anti-hyaluronidase (déterminée selon José L. Reissig, Jack L. Strominger and Luis F. Leloior, 05.12.1955).

La N-acétyl glucosamine libérée au bout de 45 minutes lors de la réaction de la hyaluronidase sur l'acide hyaluronique est mesurée au spectrophotomètre.  
30      Un procédé de réduction des sucres anhydre, qui en milieu acide sont transformés en dérivés furanne est utilisé; ces derniers réagissent avec le para-diméthyl- aminoben-zaldéhyde pour former un complexe coloré.

L'activité est exprimée en µg de N-acétylglucosamine formée par minute.  
35



L'activité anti hyaluronidase est exprimée en quantité d'extrait pour obtenir 50% d'inhibition.

Les résultats sont exprimés à la figure 5a.

Le volume de demi-inhibition  $VI_{50}$ , de l'extrait d'Aphloïa est de 95 à 120  $\mu$ l. A titre de comparaison l'héparine, inhibiteur reconnu de la hyaluronidase (Sigma 10 USP/ml) a une  $VI_{50}$  de 380  $\mu$ l.

Activité antityrosinase (déterminée selon la méthode modifiée de Hamada, T et Mishima, Y(1972) British Journal of Dermatology, 86, 385).

Dans cette technique, la dopamine est mise en contact avec une tyrosinase en milieu tamponné à pH7 et transformée en dopachrome. Le dopachrome est une molécule colorée qui absorbe à 475 nm. La formation du produit est ainsi suivie dans le temps à 475 nm (voir figure 6 ).

L'activité de la tyrosinase est traduite par la vitesse de formation du produit. On détermine la concentration en extrait sec suffisante pour diminuer la vitesse de 50 %. (CI 50).

La CI 50 déterminée est de l'ordre de  $5.10^{-2}$ -0,3 mg/ml. Ce qui représente une activité 10 à 15 fois supérieure à celle obtenue avec un extrait de Busserole, déjà connu pour son activité antityrosinase.

Ces données permettent de conclure que l'extrait d'Aphloïa possède une activité antityrosinase très intéressante. Par conséquent, en plus des utilisations déjà définies, les extraits sont donc utilisables en cosmétique de soins et/ou de décoration et en pharmacie, pour aider à la résorption des taches brunes dues au vieillissement cutané et d'une manière plus générale au blanchiment cutané.

Les extraits d'Aphloïa possèdent un effet protecteur vis à vis des agressions moléculaires au niveau de la peau tout à fait considérable qui permet

d'envisager leur application comme cosmétique en particulier pour la protection de la peau et des cheveux contre les rayons ultraviolets, pour lutter contre le vieillissement cutané dû à l'âge et de manière générale pour améliorer l'apparence et la qualité de la structure de l'épiderme.

## II - EXTRAITS DE MANGIFERA

10

L'extrait de Mangifera est obtenu à partir de toutes les espèces de Mangifera, et en particulier Mangifera indica L.

Les principaux constituants, actuellement identifiés dans l'extrait de feuilles de Mangifera sp. de l'invention sont :

- . un C-glucosyltétrahydroxanthane
- . des flavonoïdes
- . des tannins

(Il est exempt de substances alcaloïdes).

L'extrait de Mangifera est obtenu de la même façon que l'extrait d'Aphloia, en soumettant les feuilles fraîches ou sèches à une extraction par un solvant polaire ou un mélange de solvants polaires (alcanol/eau ou propylène/eau par exemple). Ces extraits peuvent être utilisés sous forme liquide plus ou moins concentrés ou sous forme sèche.

### Exemple d'extrait de Mangifera

30

L'extrait étudié a été obtenu de la manière suivante :

5% (p/p) de feuilles sèches de Mangifera indica, grossièrement broyées, sont mis en contact sous agitation et à 50°C avec un mélange éthanol/eau (30/70).

L'extraction se déroule pendant 1h30. La plante est écartée par filtration sur une toile (55 µm). Puis l'extrait est filtré sur un filtre de cellulose (5 µm).

#### 5 Effet photoprotecteur

L'extrait de Mangifera décrit ci-dessus présente un spectre d'absorption dans le domaine des UV très intéressant pour une application de protection contre l'érythème solaire, avec un maximum aux alentours  
10 de 320 nm, correspondant aux UVB et un autre aux environs de 360 nm, correspondant à la zone des UVA, comme représenté à la figure 1b.

Par ailleurs, l'absence de phototoxicité a été vérifiée.

15 Compte tenu de son innocuité, la résistance de l'extrait à l'irradiation (sa photostabilité) a été testée par rapport à celles des filtres synthétiques déjà commercialisés, (comme par exemple la benzophénone 3,  
20 GAF, USA ou l'UVINUL T150, BASF, Allemagne) dans des solvants compatibles à leurs solubilités respectives.

L'extrait a donc été soumis à un rayonnement continu dont le spectre est comparable à celui de la lumière solaire et de niveau énergétique contrôlable, émis par une lampe au xénon. L'évolution du spectre  
25 d'absorption a été suivie au cours du temps et le temps de demi-vie mesuré (durée d'irradiation nécessaire pour une perte d'absorption de 50% à une longueur d'onde fixée).

Comme représenté à la figure 2b, l'extrait de  
30 Mangifera, comparé à la benzophénone 3, et à l'UVINUL T150 dans les mêmes conditions, s'est révélé au moins aussi résistant à l'irradiation, avec un temps de demi-vie nettement supérieur à ces deux filtres synthétiques.

Enfin, l'extrait de Mangifera préparé comme  
35 décrit dans le procédé de l'invention a été testé dans

une composition cosmétique afin d'évaluer l'indice de protection SPF, selon la méthode SOLATEX, méthode d'évaluation du facteur de protection solaire in vitro commercialisée par IN VITRO INTERNATIONAL (Irvine, Californie, USA).

On a incorporé 5 % en poids de l'extrait ci-dessus à une base cosmétique (contenant en outre 1.5 % de Parsol 1789, 4 % de Parsol MCX, 2 % d'Eusolex 507 et 2 % d'oxyde de titane Tioveil fin, lui conférant un SPF initial égal à 8). Cette préparation a été comparée à la même base contenant 5% en poids de propylène glycol pur. Après application du protocole SOLATEX, les résultats suivants ont été obtenus :

base seule  $\Rightarrow$  SPF = 8  
base + extrait de l'invention  $\Rightarrow$  SPF = 14

L'extrait de l'invention s'avère donc efficace pour protéger la peau contre l'irradiation ultra violette; l'extrait peut être utilisé seul, ou en association avec des filtres chimiques synthétiques ou des écrans minéraux, dont il vient renforcer l'efficacité.

L'intérêt de l'extrait obtenu selon l'invention pour la protection de la peau au niveau moléculaire est également illustré par les exemples suivants :

Activité anti radicalaire déterminée in vitro (V. Ponti, M.U. Dianzani, K. Cheeseman and T.F. Slater, Chem. Biol. interaction, 23, 281-291, 1978).

La technique utilisée est la même que celle décrite pour l'extrait d'Aphloïa. Les résultats sont représentés sur la figure 3b.

On exprime l'activité anti-radicalaire des extraits en équivalent routine pour une inhibition de 50%. Un extrait de Mangifera (extrait sec 1%) présente une activité 15 à 30 fois plus importante que le témoin routine (0,1 %) en fonction de la polarité du solvant

d'extraction utilisé.

Les données obtenues montrent que l'efficacité des extraits considérés dans la protection par-rapport aux radicaux superoxydes est tout à fait significative.

5 Les radicaux libres étant connus pour leur part active non négligeable dans le processus de vieillissement, l'extrait selon l'invention a donc potentiellement une activité intéressante dans la protection de la peau contre le vieillissement dû à l'altération des structures moléculaires de l'épiderme.

Activité anti-élastase déterminée in vitro (J. Bieth, B. Spices et Camille G. Wermeth, Biochemical medicine 11, 350-357, 1974) Modifié.

15 Le protocole suivi est le même que celui décrit pour l'extrait d'Aphloia.

La courbe des pentes obtenue en fonction des quantités d'extrait de Mangifera, permet ainsi de définir la concentration correspondant à 50 % d'inhibition (CI50). Cette courbe est reportée sur la figure 4b.

20 L'extrait de Mangifera selon l'invention présente une CI50 très significative, de l'ordre de  $5 \cdot 10^{-2}$  - 1 mg/ml et pouvant aller au-delà de cet écart en fonction de l'espèce considérée.

25 Activité anti-collagénase déterminée in vitro (Erich Wunsch and Hans Georg Heidrich Hoppe-Seyler's - Zeit - Physiol. - Chem. 333, 149-151, 1963).

30 Une collagénase est mise à agir sur un substrat hydrophile (p. phenylazo - benzylcarbonyl - L propyl - L leucyl - glycyl - L Propyl - D arginine). Le produit résultant de la coupure entre Leu et Gly est lipophyle et absorbe la lumière UV à 320 nm.

35 L'effet inhibiteur de Mangifera est mesuré en ajoutant l'extrait obtenu selon l'invention au milieu

réactionnel.

La figure 7a représente la courbe des valeurs obtenues à 320 nm en fonction des différents volumes d'extrait de Mangifera ajoutés au milieu.

5 La concentration permettant 50 % d'inhibition (CI50) peut être ainsi déterminée.

L'extrait de Mangifera présente une CI50 de l'ordre de  $5 \cdot 10^{-2}$  - 1 mg/ml et pouvant aller au-delà de cet écart en fonction de l'espèce considérée.

10

Activité anti-hyaluronidase déterminée in vitro (José L. Reissig, Jack L. Strominger and Luis F. Leloir, J. Biol.-Chem. 217, 960-966, 1953).

15 Le protocole est le même que celui décrit pour l'extrait d'Aphloia.

L'activité est exprimée en µg de N-acétylglucosamine formé par minute.

20 L'activité anti hyaluronidase est exprimée en quantité d'extrait pour obtenir 50% d'inhibition. Les résultats sont reportés sur la figure 5b.

Le volume de demi-inhibition de l'extrait de mangifera (extrait sec 1 %)  $VI_{50}$ , est de 200-250 µl, en comparaison avec l'héparine, inhibiteur reconnu de la hyaluronidase (Sigma 10 USP/ml) dont  $VI_{50}$  = 380 µl.

25

Activité antityrosinase (déterminée selon la méthode modifiée de Hamada, T et Mishima, Y. (1972) British Journal of Dermatology, 86, 385).

30 Le protocole suivi est le même que celui décrit pour l'extrait d'Aphloia. L'activité de la tyrosinase est traduite, par la vitesse du produit formé, mesuré à 475 nm.

35 On détermine la concentration en extrait sec suffisante pour diminuer la vitesse de 50 % :  $CI_{50}$  de l'ordre de 2 à 3 mg/ml.

Ces données permettent de conclure que les extraits de Mangifera possèdent un effet protecteur vis à vis des agressions moléculaires au niveau de la peau tout à fait considérable et par conséquent, l'utilisation de ceux-ci en cosmétique présente un intérêt évident, en particulier pour la protection de la peau et des cheveux contre les rayons ultra-violet, pour lutter contre le vieillissement cutané dû à l'âge et de manière générale pour améliorer l'apparence et la qualité de la structure de l'épiderme.

15

### III - MANGIFERINE PURIFIEE

#### Exemple de préparation d'une solution de mangiférine à partir d'un extrait végétal

Un des procédés d'extraction de la mangiférine consiste à extraire avec de l'éthanol 40 % les glucosides de la xanthone de la plante broyée du genre Mangifera indica. On effectue l'extraction à chaud (par exemple 50°C), à raison de 1 kg de matière végétale, pour 10 l d'agent d'extraction. L'extrait est partiellement évaporé et refroidi. La mangiférine cristallise et se dépose. On récupère ce dépôt que l'on rince plusieurs fois avec un mélange de solvants, tel l'eau ou le chloroforme, jusqu'à obtention de la substance purifiée.

30

#### Effet photoprotecteur

La mangiférine (ou ses dérivés) présente un spectre d'absorption dans le domaine des UV très intéres-

35

sant pour une application de protection contre l'érythème solaire, avec un maximum aux alentours de 320 nm, correspondant aux UVB et un autre aux environs de 360 nm, correspondant à la zone des UVA comme représenté à la figure 1c.

Par ailleurs, l'absence de phototoxicité a été vérifiée.

Compte tenu de son innocuité, la résistance de l'extrait à l'irradiation (sa photostabilité) a été testée par rapport à celles des filtres synthétiques déjà commercialisés (comme par exemple l'octylméthoxycinnamate, Parsol MCX, Givaudan, Bâle, Suisse).

Une solution de mangiférine a été soumise à un rayonnement continu dont le spectre est comparable à celui de la lumière solaire et de niveau énergétique contrôlable, émis par une lampe au xénon. L'évolution du spectre d'absorption a été suivie au cours du temps et le temps de demi-vie mesuré (durée d'irradiation nécessaire pour une perte d'absorption de 50 % à une longueur d'onde fixée).

Comme représenté à la figure 2c, la mangiférine en solution aqueuse comparée à la Benzophénone 4 dans les mêmes conditions, s'est révélée aussi résistante à l'irradiation avec un temps de demi-vie très comparable.

Qui plus est, son coefficient d'absorption moléculaire calculé se révèle comparable à ceux de la plupart des filtres synthétiques commercialisés, c'est-à-dire entre 20 000 et 30 000 L.cm<sup>-1</sup>.mole<sup>-1</sup>.

La mangiférine peut donc s'avérer efficace pour protéger la peau contre l'irradiation ultra-violette; elle peut être utilisée seule, ou en association avec des filtres chimiques synthétiques ou des écrans minéraux, dont elle vient renforcer l'efficacité.

L'intérêt de la mangiférine pour la protec-



tion de la peau au niveau moléculaire est également illustré par les exemples suivants :

Activité anti-élastase déterminée in vitro (J. Bieth, B. spices et Camille G. Wermecht, *Biochemical medicine* 11, 350-357, 1974) modifié.

Selon le même protocole que celui précédemment décrit pour les extraits d'Aphloïa et de Mangiféra, des quantités croissantes d'une solution de mangiférine (0,01%) sont introduites dans un mélange réactionnel final de 3,01 ml.

La courbe des pentes obtenue en fonction des quantités de mangiférine, permet ainsi de définir la concentration correspondant à 50 % d'inhibition (CI50). Cette courbe est reportée sur la figure 4c.

La mangiférine présente une CI50 très significative de l'ordre de  $10^{-2}$  mg/ml.

Activité anti-collagénase déterminée in vitro (Erich Wunsch and Hans Georg Heidrich Hoppe-Seyler's - *Zeit - Physiol. Chem.* 333, 149-151, 1963).

L'effet inhibiteur de la mangiférine est mesuré par ajout au milieu réactionnel d'une solution à 0,042 % dans du propylène glycol.

La figure 7b représente la courbe des valeurs obtenues à 320 nm en fonction des différents volumes de solution de mangiférine ajoutés au milieu. La concentration permettant 50 % d'inhibition (CI50) peut être ainsi déterminée. La mangiférine présente un CI50 de l'ordre de  $5.10^{-2}$  mg/ml.

Les données obtenues montrent que l'efficacité de cette molécule en particulier au niveau de la protection des qualités structurelles de la peau est tout à fait significative.

**Activité anti-tyrosinase in vitro**

Une tyrosinase est mise à agir à température ambiante, sur un substrat LDopa. Le produit formé est suivi au cours du temps au spectrophotomètre à 475 nm.

5 Une solution de mangiférine à 0,2 % permet une inhibition de 50 % de la tyrosinase, soit une  $CI_{50}$  de l'ordre de 0,2 mg/ml.

Par son effet anti-tyrosinase, la mangiférine peut contribuer à l'unification de l'aspect de la peau.

10

**Activité anti-radicalaire déterminée in vitro** (V. Ponti, M.U. Dianzani, K. Cheeseman and T.F. Slater, *Chem. Biol. interaction*, 23, 281-291, 1978).

15 Les résultats sont représentés sur la figure 3c.

On exprime l'activité anti-radicalaire des extraits en équivalent rutine pour une inhibition de 50%.

20 Une solution de mangiférine à 1 % dans du propylène glycol présente une activité 4 fois plus importante qu'une solution référence de rutine à 0,1 %. Les données obtenues montrent que l'efficacité de cette molécule dans la protection par rapport aux radicaux superoxydes est intéressante.

25

L'ensemble de ces données permet de conclure que la molécule de mangiférine ou ses dérivés ainsi que les extraits d'Aphloïa ou de Mangiféra en contenant, sont utilisables en cosmétique de soins et/ou de décoration et en pharmacie. Ils sont en particulier utiles : pour 30 la protection contre les UVA et UVB, de par leur rôle filtrant et anti radicalaire, protégeant de l'effet nocif des radicaux produits sous l'effet des UVA; pour les peaux fragilisées par le temps (âge) : diminution de 35 l'hydratation et de la tonicité des tissus, de par leurs

propriétés anti-hyaluronidase limitant la dégradation de l'acide hyaluronique (protéoglycane ayant un pouvoir hydratant très puissant) ; ainsi que par leurs propriétés anti-collagénase et anti-élastase limitant la dégradation du collagène et de l'élastine, l'état de ces molécules étant notamment responsable de la qualité structurale de la peau.

Les extraits de feuilles d'Aphloia et de Mangifera sp. ainsi que la mangiférine sous forme pure et ses dérivés peuvent être utilisés tels quels, vectorisés, microencapsulés, en association avec un mélange d'excipients tels que : huiles végétales, minérales ; cires végétales ou minérales ; silicones ; alcools et acides gras ; agents tensio actifs ; dérivés de protéines, gélifiants inorganiques ou organiques ; lanoline et ses dérivés ; filtres UV organiques ou inorganiques, eau ; ou en association avec d'autres extraits végétaux.

Les exemples suivants de composition contenant un extrait d'aphloia, de Mangifera ou de la Mangiférine purifiée pour principe actif, illustrent la présente invention.

25

### 1. Exemples de compositions sous forme de gels

Les tableaux suivants indiquent des formulations pour des compositions sous forme de gel aqueux (colonne 1) ou de gel hydroalcoolique (colonne 2),

35

- contenant de la Mangiférine purifiée :

5		(1)	(2)
	Acide polyacrylique	1,20	1,20
	Gomme Xanthane	0,30	0,30
	Mangiférine	0,01 à 10 %	0,01 à 10 %
	Eau	qsp	qsp
10	Ethanol	x	50
	Triglycérides C8/C10	5	x
	Lanoline 78 OE *	x	5
	Alcool oléique 200 E	3	x
	Parfum	0,20	0,20
15	Triéthanolamine (TEA)	1,10	1,10

\* Lanoline éthoxylée avec 78 moles d'OE

20

25

- contenant un extrait de Mangiféra :

		(1)	(2)
	Acide polyacrylique	1,20	1,20
	Hydroxypropyl	0,20	0,20
5	Extrait sec de Mangiféra	0,01 à 10 %	0,01 à 10 %
	Eau	qsp	qsp
	Ethanol	x	40
	Acide Caprique 7 OE**	3	x
	Diméthicone copolyol	x	5
10	Alcool laurique 14 OE**	3	x
	Parfum	0,20	0,20
	NaOH	0,30	0,35

\*\* Acide caprique éthoxylé avec 7 moles d'OE

15 \*\*\* Alcool laurique éthoxylé avec 14 moles d'OE

## 2. Exemples de compositions sous forme d'émulsion

- contenant de la Mangiférine purifiée :

20	Eau	qsp
	Mangiférine	0,01 à 10%
A	Conservateurs	qsp
	Propylène glycol	5,00%
	Gomme xanthane	0,30%
25	Copolymère acrylique/acrylate	0,50%
	Acide stéarique 100 OE ****	3,00%
	Stéarate de sorbitan	2,00%

		Sorbitan laurate 20 OE	3,00%
		Alcool cétylstéarique	1,50%
	B	Cire d'abeille	1,00%
		Huile de germe de blé	5,00%
5		Diméthicone	2,00%
		Cyclométhicone	5,00 %
	C	Gel de polyacrylamide	2,00%
	D	Parfum	0,30%
10		**** acide stéarique éthoxylé avec 100 moles d'OE	
		- contenant un extrait d'Aphloïa :	
		Eau	qsp
		Extrait sec d'Aphloïa	0,01 à 10%
15	A	Conservateurs	qsp
		Dipropylène glycol	5,00%
		Alginate de sodium	0,30%
		Copolymère acrylique/acrylate	0,50%
		Acide stéarique 100 OE	3,00%
20		Stéarate de sorbitan	2,00%
		Sorbitan laurate 20 OE	3,00%
		Acide stéarique	1,50%
	B	Cire de Carnauba	1,00%
		Huile d'aveline	5,00%
25		Diméthicone	2,00%
		Cyclométhicone	5,00%
	C	Gel de polyacrylamide	2,00%
	D	Parfum	0,30%
30			

### 3. Exemples de compositions sous forme de crème

#### - contenant de la Mangiférine purifiée :

		Eau	qsp
5		Gomme xanthane	0,30%
	A	Séquestrant (par ex. EDTA)	0,05%
		Conservateurs	qsp
		Mangiférine	0,01 à 10%
		Acide C 18	2,50%
10		Alcool C 16	2,50%
		Trilaurine	1,00%
	B	Beurre de karité	3,00%
		Acétate de tocophérol	0,05%
		$\alpha$ Bisabolol	0,05%
15		Huile végétale (blé)	5,00%
		Diméthicone	3,00%
		Acide polyacrylique	0,30%
	C	Eau	3,00%
	D	TEA	1,50%
20	E	Parfum	0,10%

#### - contenant un extrait de Mangiféra :

		Eau	qsp
25		Gomme guar	0,30%
	A	Séquestrant (par ex. EDTA)	0,05%
		Conservateurs	qsp
		Extrait sec de Manguier	0,01 à 10%
		Acide C 18	2,50%
30		Céthyl palnitrate	2,50%

		Trilaurine	1,00%
	B	Beurre de karité	3,00%
		Acétate de tocophérol	0,05%
		$\alpha$ Bisabolol	0,05%
5		Cocoate d'éthyl hexyl	5,00%
		Diméthicone	3,00%
		Acide polyacrylique	0,30%
	C	Eau	3,00%
	D	TEA	1,50%
10	E	Parfum	0,10%

#### 4. Exemples de compositions sous forme de lotion

##### - contenant de la Mangiférine purifiée :

15		Eau	qsp
		Agent séquestrant	0,05%
		Propylène glycol	2,00%
		Conservateurs	qsp
20		Mangiférine	0,01 à 10%
		Alcool	5 à 50%
		Alcool oléique 20 OE	1,00%
		Parfum	0,05%
		Colorants	qsp

25

##### - contenant un extrait d'Aphloïa :

		Eau	qsp
		Agent séquestrant	0,05%
30		Méthyl gluceth 20 (émollient)	2,00%



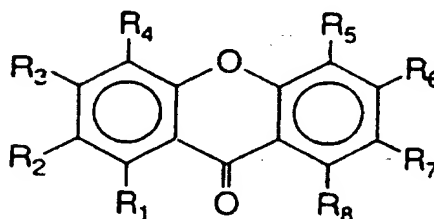
5

Conservateurs	qsp
Extrait d'Aphloïa	0,01 à 50%
Alcool	5 à 50%
Huile de ricin 40 OE	1,00%
Parfum	0,05%
Colorants	qsp
Alanthoine	0,1%

## REVENDICATIONS

1. Composition cosmétique ou pharmaceutique  
comprenant, à titre de principe actif,  
5 un composé de la formule I générale suivante :

10



formule I

15

où  $R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8$  sont choisis  
parmi  $-H, -OH, -OCH_3$  et un radical glucosyle  
ou un de ses sels pharmaceutiquement accepta-  
ble.

20

2. Composition selon la revendication 1, dans  
laquelle  $R_1, R_3, R_6, R_7$  sont choisis parmi  $-H, -OH, -OCH_3$   
et un radical glucosyle  
et  $R_2 = R_5 = R_8 = H$  et  $R_4$  est un radical  
glucosyle, ou  $R_2$  est un radical glucosyle et  $R_4 = R_5 = R_8 = -H$ .

25

3. Composition selon la revendication 1 ou 2,  
dans laquelle  $R_1 = R_3 = R_6 = R_7 = OH$   
et  $R_2$  est un radical glucosyle et  $R_4 = R_5 = R_8 = H$ .

30

4. Composition selon l'une quelconque des  
revendications 1 à 3, caractérisée en ce que ledit  
composé est présent en quantité de 0,01 à 50 % en poids,  
sous forme sèche.

35

5. Composition selon l'une quelconque des  
revendications précédentes, caractérisée en ce que ledit

composé est présent en quantité de 0,01 à 10 % en poids, sous forme sèche.

5 6. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans laquelle ledit composé est présent sous forme d'un extrait végétal.

10 7. Composition cosmétique ou pharmaceutique selon la revendication 6, comprenant un extrait de feuilles d'Aphloia à titre de principe actif.

15 8. Composition cosmétique ou pharmaceutique selon la revendication 6, comprenant un extrait de feuilles de Mangifera à titre de principe actif.

20 9. Composition selon la revendication 7 ou 8, caractérisée en ce qu'elle comprend de 0,01 % à 20 % en poids d'extraits de feuilles, exprimé en poids d'extrait sec par rapport au poids total de la composition.

25 10. Composition selon l'une quelconque des revendications 6 à 8, caractérisée en ce que l'extrait végétal est obtenu par extraction par un solvant polaire ou un mélange de solvants polaires.

30 11. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, sous forme d'émulsions simple ou multiple, de micro-émulsion, de gels aqueux ou hydroalcooliques, de crème, d'huiles, de lotions aqueuse ou hydroalcoolique, de bâtonnet, de shampooing ou après-shampooing.

35 12. Composition cosmétique selon l'une quelconque des revendications précédentes, destinée à protéger la peau, les lèvres ou les cheveux contre les

rayons ultra-violets.

13. Composition cosmétique selon l'une  
quelconque des revendications 1 à 11, destinée à améliorer la qualité structurelle de la peau.

14. Composition cosmétique selon l'une  
quelconque des revendication 1 à 11, destinée à lutter  
contre le vieillissement cutané.

10

15. Méthode de traitement esthétique consistant à appliquer sur la peau, les lèvres ou les cheveux une composition cosmétique selon l'une quelconque des revendications précédentes.

15

16. Utilisation d'un composé de formule I sous forme purifiée ou sous forme d'un extrait végétal pour la fabrication d'une composition cosmétique ou pharmaceutique à action photoprotectrice, anti-collagénase et anti-élastase, anti-radicalaire et anti-tyrosinase.

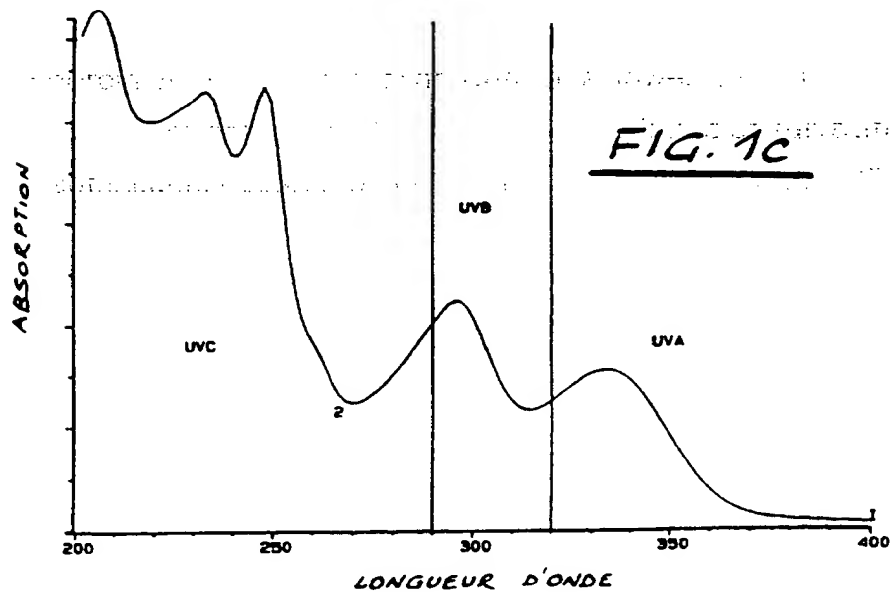
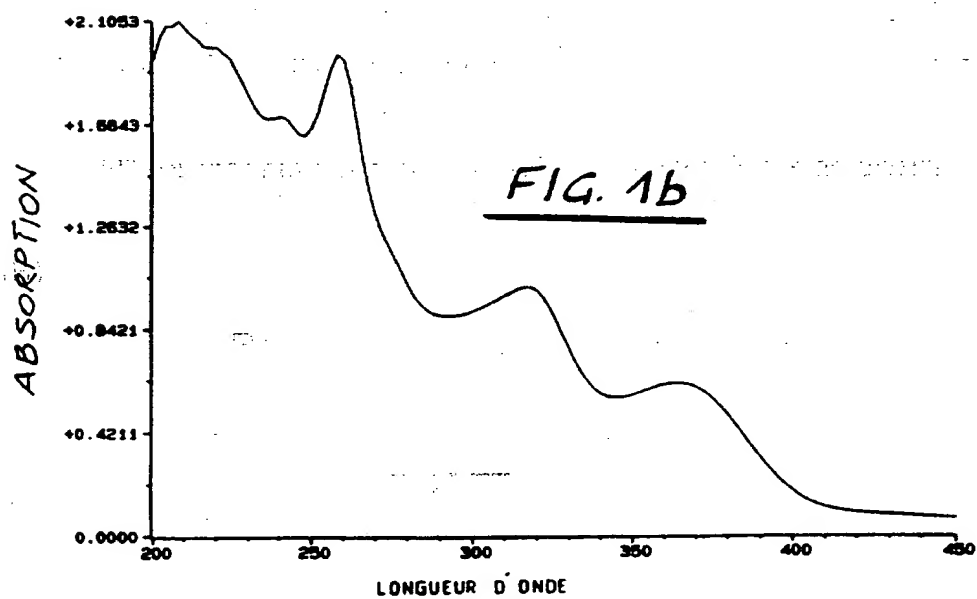
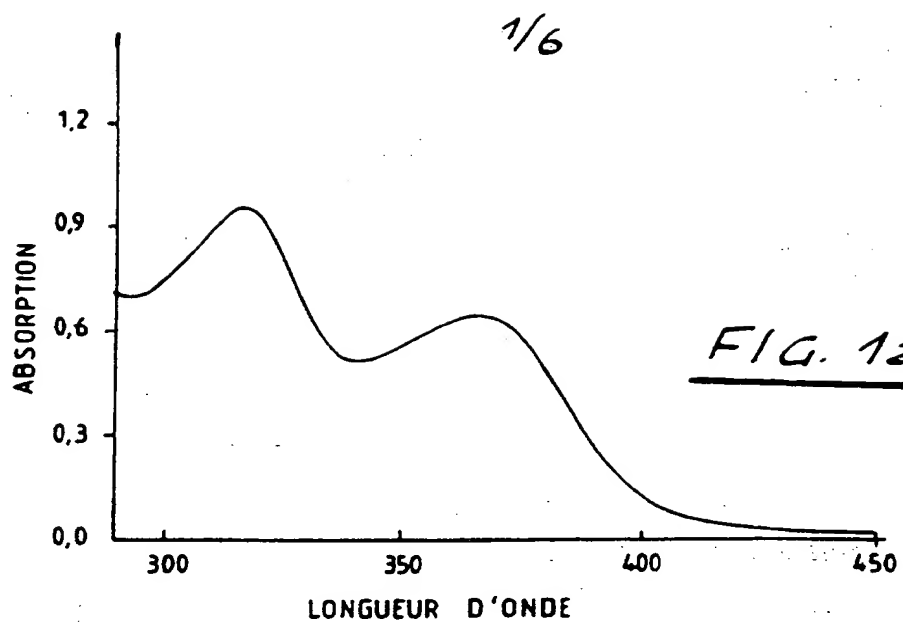
20

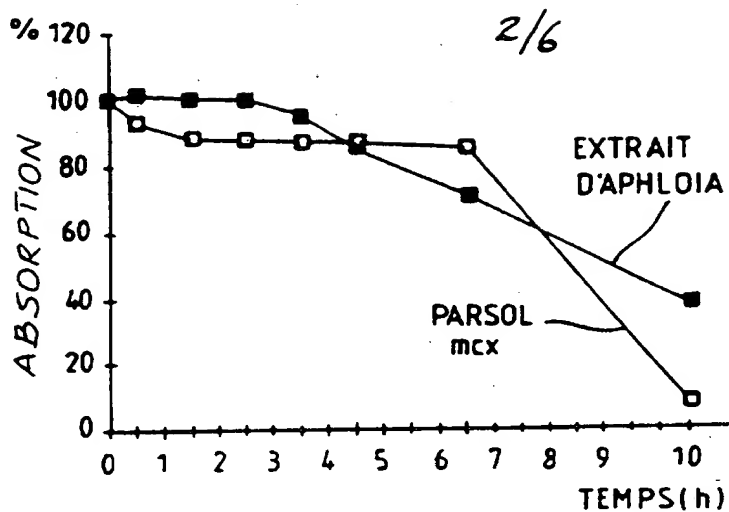
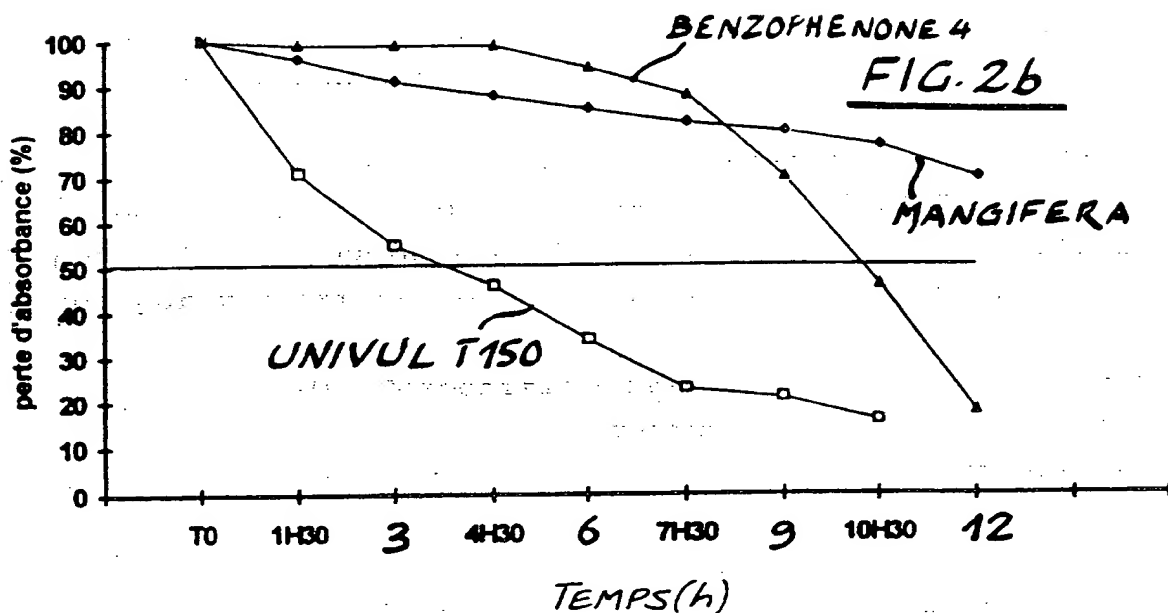
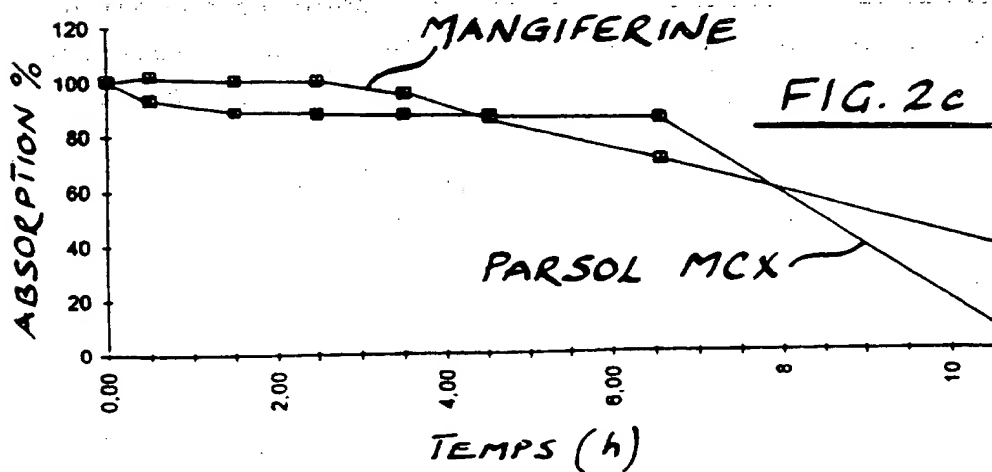
17. Utilisation selon la revendication 16, caractérisée en ce que le composé de formule I est sous forme d'un extrait de feuilles d'Aphloia ou de Mangifera.

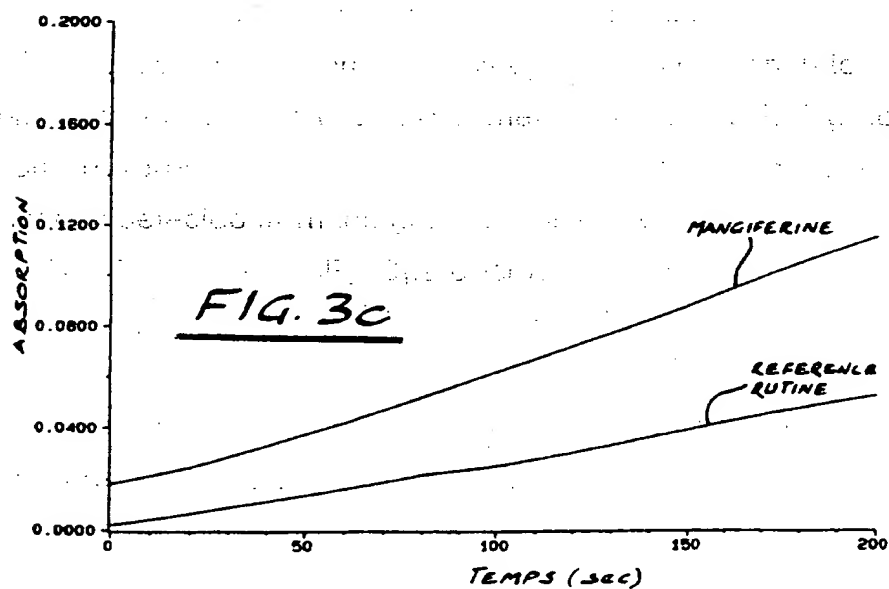
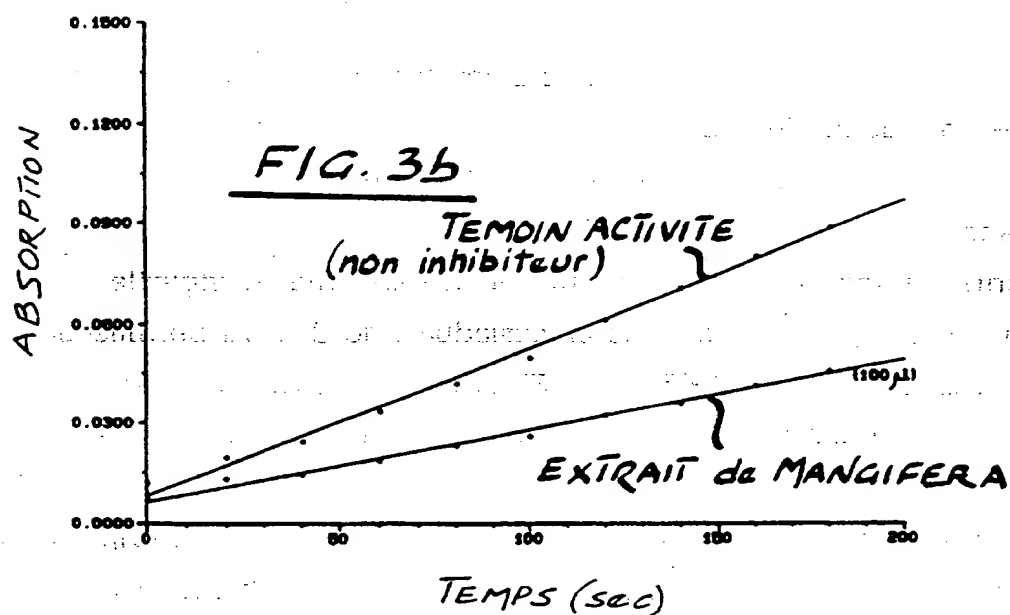
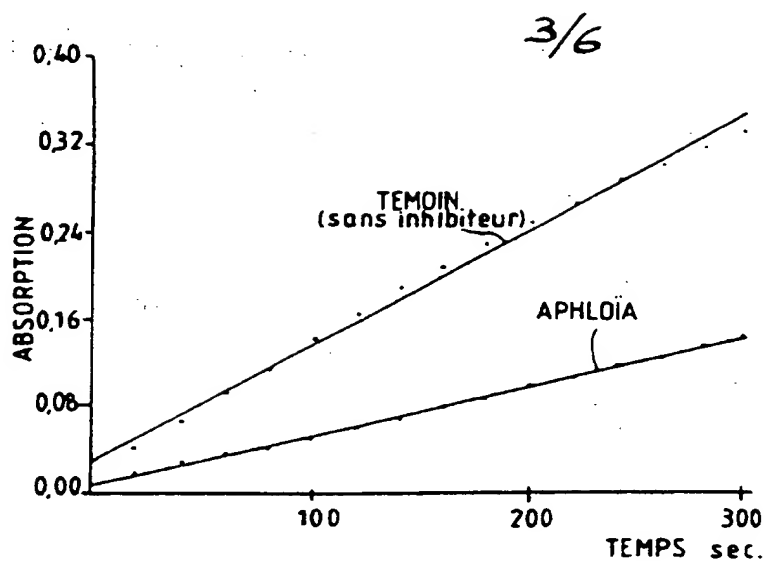
25

30

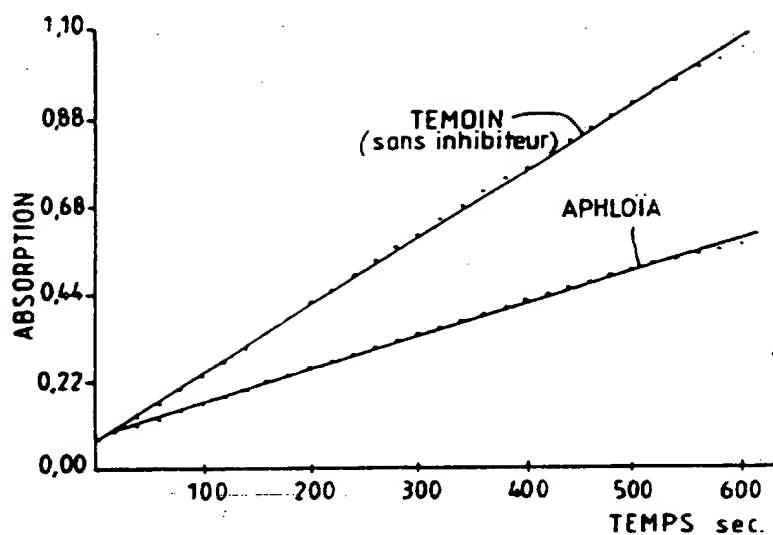
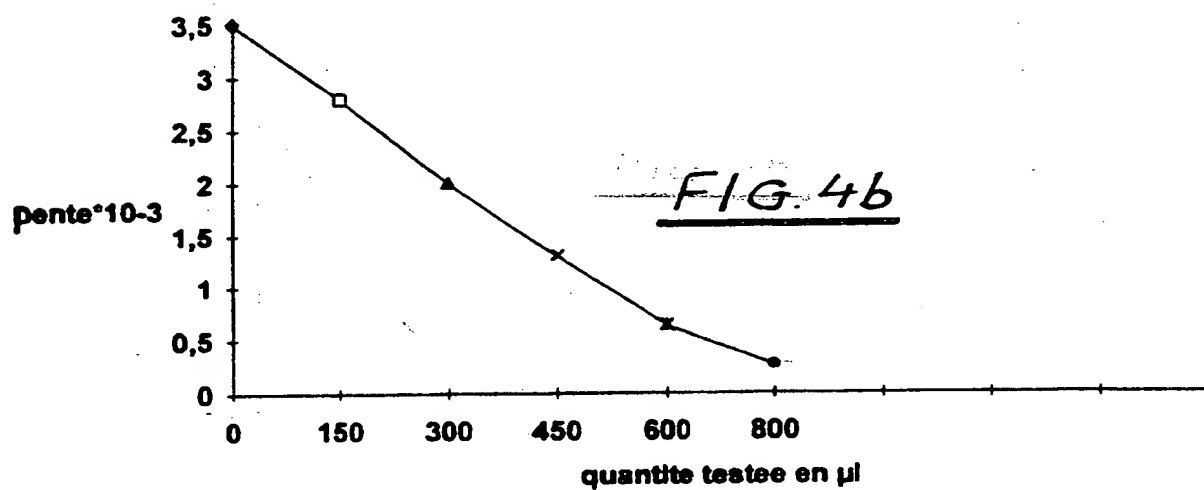
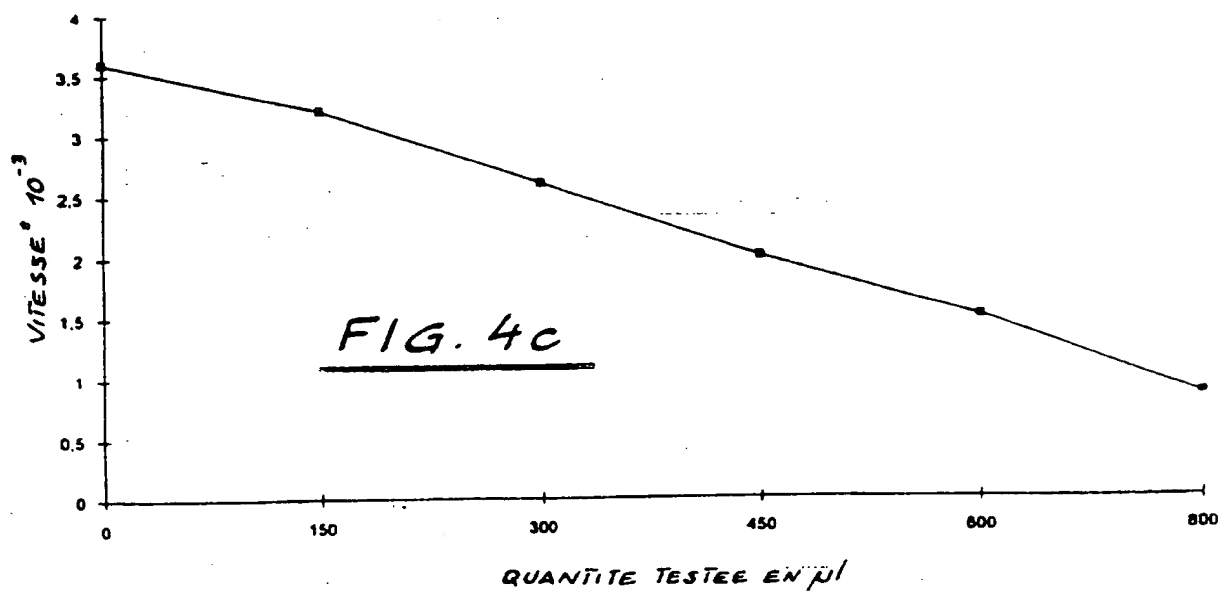
35



FIG. 2aFIG. 2bFIG. 2c

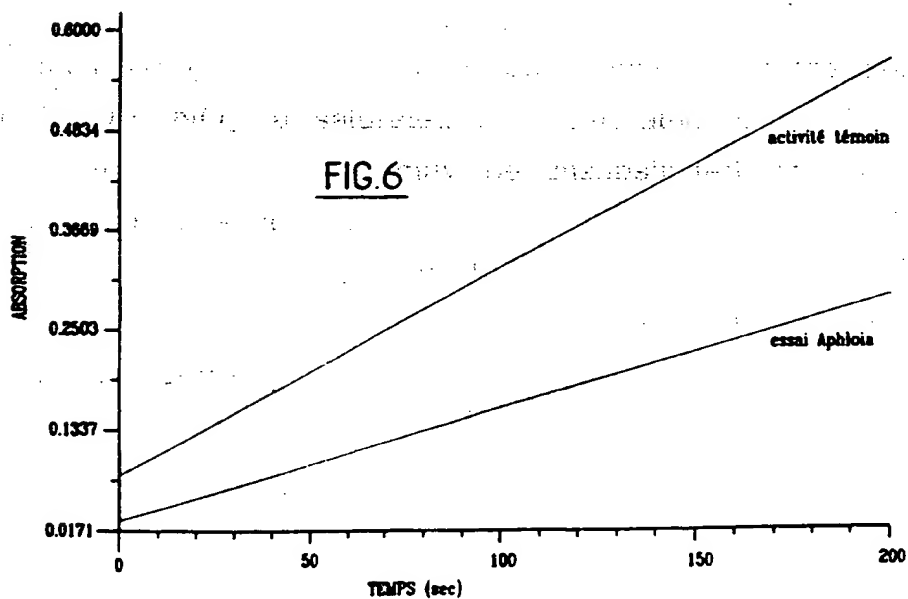
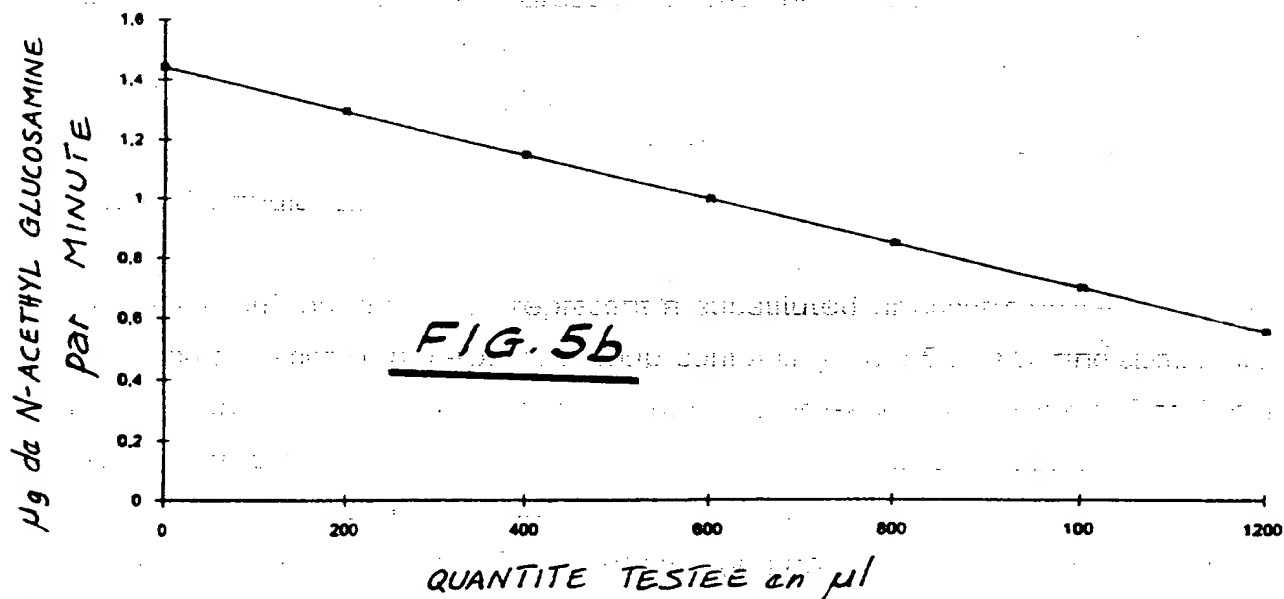
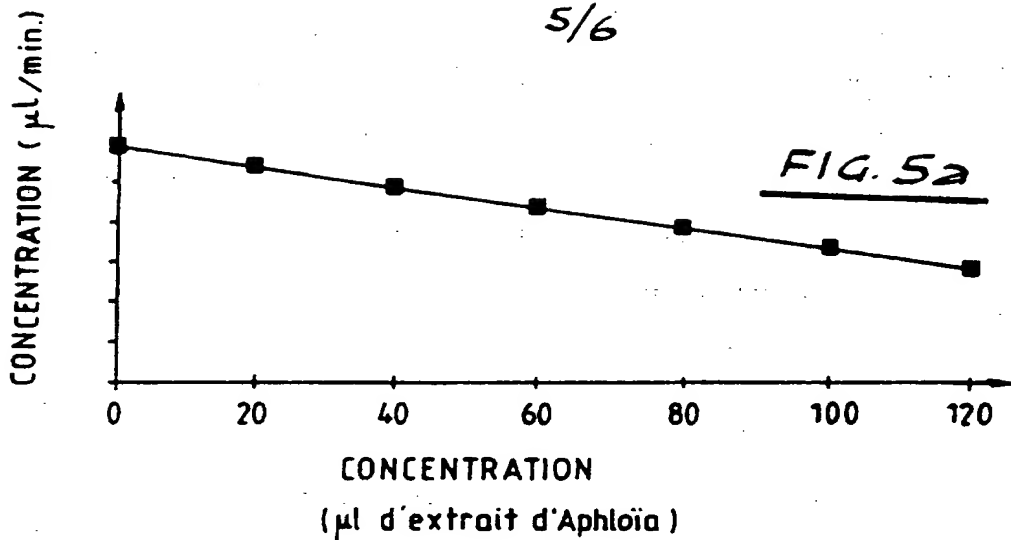


4/6

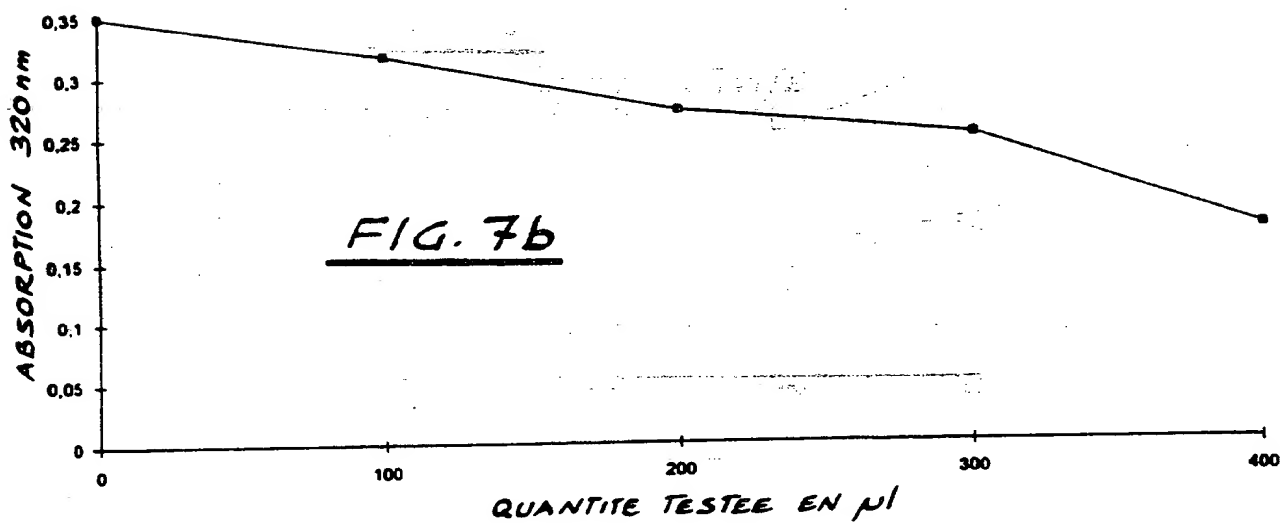
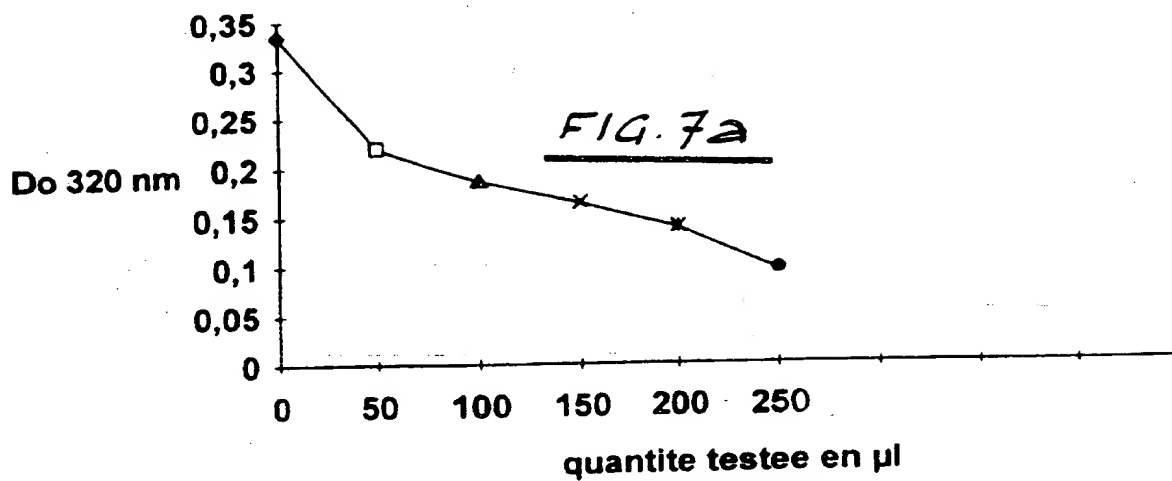
FIG. 4aFIG. 4bFIG. 4c



5/6



6/6



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PC, /FR 95/01552

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 A61K7/06 A61K7/42 A61K31/70 A61K35/78

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	PHYTOTHER. RES., vol. 7, no. 2, 1993 pages 107-110, XP 000564924 S. GUHA ET AL. 'Activation of peritoneal macrophages by mangiferin, a naturally occurring xanthone.' see the whole document	1-3
X	DE,A,31 41 970 (V.N.I.I. LEKARSTVENNYCH RASTENIJ) 5 May 1983 see page 20; claims	1-6
X	BE,A,689 583 (CH. MENTZER ET AL.) 14 April 1967 see the whole document	1-6
A	GB,A,2 102 290 (L'OREAL) 2 February 1983 --- -/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents:

- \* "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \* "E" earlier document but published on or after the international filing date
- \* "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date or another citation or other special reason (as specified)
- \* "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \* "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

\* "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

\* "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

\* "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

\* "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

18 March 1996

Date of mailing of the international search report

26.03.96

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patendaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax (+ 31-70) 340-3016

Authorized officer

Klaver, T

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PC./FR 95/01552

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	FR,A,2 486 941 (V.N.I.I. LEKARSTVENNYCH RASTENIJ) 22 January 1982 ---	
A	US,A,4 217 341 (SUDDICK ET AL.) 12 August 1980 ---	
A	CHEM. PHARM. BULL., vol. 40, no. 3, 1992 pages 721-724, XP 000564574 T. SATO ET AL 'Mechanism of antioxidant action of pueraria glycoside (PG)-1 (an isoflavonoid) and mangiferin (a xanthonoid).' -----	

Form PCT ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PC/FR 95/01552

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE-A-3141970	05-05-83	GB-A,B 2108383	18-05-83
BE-A-689583	14-04-67	FR-M- 5152 GB-A- 1099764	12-06-67
GB-A-2102290	02-02-83	FR-A- 2509988 BE-A- 893906 CA-A- 1184362 CH-A- 651748 DE-A- 3227421 JP-C- 1584770 JP-B- 2006323 JP-A- 58024509 US-A- 4437895	28-01-83 24-01-83 26-03-85 15-10-85 10-02-83 31-10-90 08-02-90 14-02-83 20-03-84
FR-A-2486941	22-01-82	DE-A- 3128173 GB-A,B 2082170 JP-C- 1518445 JP-A- 57050997 JP-B- 63065074 US-A- 4518592	22-04-82 03-03-82 07-09-89 25-03-82 14-12-88 21-05-85
US-A-4217341	12-08-80	NONE	

## RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

 Dem: - Internationale No  
 PC1/FR 95/01552

 A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE  
 CIB 6 A61K7/06 A61K7/42 A61K31/70 A61K35/78

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

## B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

 Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)  
 CIB 6 A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)

## C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	PHYTOTHER. RES., vol. 7, no. 2, 1993 pages 107-110, XP 000564924 S. GUHA ET AL. 'Activation of peritoneal macrophages by mangiferin, a naturally occurring xanthone.' voir le document en entier	1-3
X	DE,A,31 41 970 (V.N.I.I. LEKARSTVENNYCH RASTENIJ) 5 Mai 1983 voir page 20; revendications	1-6
X	BE,A,689 583 (CH. MENTZER ET AL.) 14 Avril 1967 voir le document en entier	1-6
A	GB,A,2 102 290 (L'OREAL) 2 Février 1983 --- -/-	

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

## \* Catégories spéciales de documents cités:

- \*A\* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- \*E\* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- \*L\* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- \*O\* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- \*P\* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- \*T\* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- \*X\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- \*Y\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- \*Z\* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

18 Mars 1996

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

26.03.96

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

 Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
 NL - 2280 HV Rijswijk  
 Tel. (- 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
 Fax (- 31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Klaver, T

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dem. 'e Internationale No

PC 1 / FR 95/01552

**C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS**

Category	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	FR,A,2 486 941 (V.N.I.I. LEKARSTVENNYCH RASTENIJ) 22 Janvier 1982 ---	
A	US,A,4 217 341 (SUDDICK ET AL.) 12 Août 1980 ---	
A	CHEM. PHARM. BULL., vol. 40, no. 3, 1992 pages 721-724, XP 000564574 T. SATO ET AL. 'Mechanism of antioxidant action of pueraria glycoside (PG)-1 (an isoflavonoid) and mangiferin (a xanthonoid).' -----	

Formulaire PCT/ISA 210 (suite de la deuxième feuille) (juillet 1992)

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux familles de brevets

Dem. Internationale No

PC 1 / FR 95/01552

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
DE-A-3141970	05-05-83	GB-A, B 2108383	18-05-83
BE-A-689583	14-04-67	FR-M- 5152 GB-A- 1099764	12-06-67
GB-A-2102290	02-02-83	FR-A- 2509988 BE-A- 893906 CA-A- 1184362 CH-A- 651748 DE-A- 3227421 JP-C- 1584770 JP-B- 2006323 JP-A- 58024509 US-A- 4437895	28-01-83 24-01-83 26-03-85 15-10-85 10-02-83 31-10-90 08-02-90 14-02-83 20-03-84
FR-A-2486941	22-01-82	DE-A- 3128173 GB-A, B 2082170 JP-C- 1518445 JP-A- 57050997 JP-B- 63065074 US-A- 4518592	22-04-82 03-03-82 07-09-89 25-03-82 14-12-88 21-05-85
US-A-4217341	12-08-80	AUCUN	